



Hematologiska parametrar

– hematokrit, hemoglobinkoncentration och retikulocytantal hos mopsar och franska bulldoggar

Hematologic variables – hematocrit, hemoglobin concentration and reticulocyte count in pugs and French bulldogs

Lovisa Kinhult

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2021



Hematologiska parametrar – hematokrit, hemoglobinkoncentration och retikulocytantal hos mopsar och franska bulldoggar

Hematologic variables – hematocrit, hemoglobin concentration and reticulocyte count in pugs and French bulldogs

Lovisa Kinhult

Handledare: Cecilia Rohdin, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare: Ulrika Falkenö, Sveriges lantbruksuniversitet, Klinisk kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset
Examinator: Bodil Ström Holst, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX0869
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2021
Omslagsbild: Elsa Alkelin

Nyckelord: erythrocytos, polycytemi, brakycefali, sömnapné, mops, fransk bulldog

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

<https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Brakycéfala hundraser är ofta drabbade av brakycéfalt obstruktivt syndrom vilket kan ge en nedsatt syresättning. Brakycéfala hundar kan jämföras med människor drabbade av sömnapné och engelsk bulldog har därför använts som studiemodell för dessa patienter. Det är sedan tidigare konstaterat att människor med sömnapné har högre hemoglobinkoncentration och hematokrit jämfört med friska kontroller. Förhöjda hemoglobinkoncentrationer och hematokriter som fysiologisk anpassning till syrebrist har även hävdats kunna drabba brakycéfala hundar även om specifika studier för att undersöka detta aldrig har utförts. Syftet med denna studie var att undersöka om brakycéfala hundar har förhöjda hemoglobinkoncentrationer och hematokriter.

I studien användes data från mopsar och franska bulldoggar vilka jämfördes med en kontrollgrupp med hundar av liknande storlek och vikt. Journaluppgifter togs från hundar blodprovstagna på någon av följande fyra kliniker: SLU Universitetsdjursjukhuset, Anicura Albano; Bagarmossen eller Roslagen. Totalt inkluderades 118 stycken mopsar, 148 stycken franska bulldoggar och 164 stycken i kontrollgruppen. De franska bulldoggarna hade signifikant högre hemoglobinkoncentration och hematokrit jämfört med kontrollgruppen medan mopsarna hade signifikant lägre hemoglobinkoncentration och hematokrit. Mopsarna hade däremot signifikant högre retikulocytantal jämfört med kontrollgruppen och ingen skillnad kunde för detta visas mellan de franska bulldoggarna och kontrollgruppen. Fåtalet skillnader påvisades när de olika klinikerna, könen och åldrarna jämfördes inom och mellan grupperna.

Studien diskuterar möjliga förklaringar till dessa förändringar hos de brakycéfala hundarna så som ålder, underliggande sjukdom och normalvariation för raserna. Vissa är mer sannolika än andra men sammanfattningsvis konstateras det att inte alla brakycéfala hundar har förhöjd hematokrit och hemoglobinkoncentration.

Nyckelord: erytrocytos, polycytemi, brakycéfali, sömnapné, mops, fransk bulldog

Abstract

Brachycephalic dogs are often affected by brachycephalic obstructive airway syndrome, which can result in a decreased oxygenation. These dogs can be compared to people diagnosed with obstructive sleep apnea. One study even used the English bulldog as a study model for these patients. It has already been stated that people with sleep apnea have increased levels of hemoglobin and hematocrit compared to a healthy control group. With this reasoning similar differences have been suggested to apply to brachycephalic dogs even though there's no studies specifically studying this. The purpose of this study was to confirm or refute these statements.

This study used data from pugs and French bulldogs that were compared to a control group consisting of dogs with a similar weight and size. Information from medical records was collected from the following four clinics: SLU Universitetsdjursjukhuset, Anicura; Albano; Bagarmossen and Roslagen. In total 118 pugs, 148 French bulldogs and 164 in the control group were included in the study. For the French bulldogs it was concluded that their hemoglobin concentration and hematocrit was significantly higher than the control group but for the pug-group both hemoglobin concentration and hemoglobin was significantly lower. Few differences were found when the different clinics, genders and ages were compared within and between all groups.

Multiple explanations to these changes are discussed in the following study for example age, underlying disease and breed variation. Some are more likely than others but to conclude it cannot be stated that all brachycephalic dog breeds suffer from increased hematocrit and hemoglobin concentration.

Keywords: erthrocytosis, polycythemia, brachycephalic, sleep apnea, pug, French bulldog

Innehållsförteckning

1. Inledning	9
2. Litteraturöversikt.....	10
2.1. Hematologi.....	10
2.1.1. Erytropoesen	10
2.1.2. Erytrocytos/polycytemi	11
2.2. Mätinstrument	12
2.3. Brakycefali.....	13
2.3.1. Obstruktiv sömnapné hos människa	14
2.3.2. Likheter mellan, och riskfaktorer för, BOAS och OSA.....	15
2.3.3. Hematologiska förändringar BOAS och OSA	16
3. Material och metod	17
3.1. Material.....	17
3.2. Metod	17
4. Resultat.....	19
4.1. Hemoglobin	19
4.2. Hematokrit	21
4.3. Retikulocyter.....	23
4.4. Diagnoskoder.....	25
5. Diskussion	26
5.1. Hemoglobin och hematokrit.....	26
5.2. Retikulocyter.....	28
5.3. Slutsats	29
Referenser	30
Populärvetenskaplig sammanfattning.....	34

1. Inledning

De senaste åren har brakycefala hundraser blivit alltmer populära. År 2015 fanns det 6589 stycken registrerade franska bulldoggar i Sverige enligt Jordbruksverkets statistik. För samma ras 4 år senare ligger siffran på 11239 stycken registrerade hundar. Mopsarna uppvisar en liknande ökning där antalet registrerade hundar låg på 4598 stycken år 2015 och 6015 stycken år 2019.

Brakycefala hundar är kända för sitt korta skallparti, stora ögon och clowniga personligheter. Något de flesta inte tänker på är att den korta skallen kommer med konsekvenser såsom knipta näsborrar, smala luftstrupar och följaktligen problem med syresättningen och värmeregleringen. Brakycefala hundraser lider också ofta av brakycefalt obstruktivt syndrom vilket påverkar deras andning och förmåga att syresätta sig. Kroppen reagerar på den låg syresättning genom att producera fler röda blodkroppar – ett fenomen som studerats på människor som tränar på hög höjd eller som lider av sömnapné. Erytrocytos innebär en ökning av antalet cirkulerande röda blodkroppar, hemoglobinkoncentration och hematokrit. Dessa hematologiska förändringar har påvisats hos människor med sömnapné och eftersom dessa även beskrivits uppvisa liknande kliniska symptom (exempelvis snarkningar) som brakycefala hundraser har engelska bulldoggar använts för att beskriva syndromet hos människa. Utifrån detta resonemang har det angetts att brakycefala hundraser har högre blodvärden än andra hundraser.

Detta examensarbete syftar till att ta reda på om påståenden som angetts angående att brakycefala hundraser skulle ha högre hemoglobinkoncentration men även hematokrit än icke-brakycefala hundraser stämmer genom att jämföra blodprover från mopsar och franska bulldoggar med en kontrollgrupp av icke-brakycefala hundar.

2. Litteraturöversikt

2.1. Hematologi

Röda blodkroppar (erythrocyter) produceras i benmärgen. (Rebar *et al.* 2001) Erythrocyter är cirkulära, tillplattade celler och hos de flesta domesticerade djur är de bikonkava. Erythrocyternas uppgift är att transportera syre från lungorna ut i alla kroppens vävnader med hjälp av hemoglobin och att transportera koldioxid i motsatt riktning till lungorna. Antalet cirkulerande erythrocyter påverkas av förändringar i plasmavolym, destruktions- eller förlusthastigheten, mjältkontraktion, erythropoetinsekretion m.m. (Rebar *et al.* 2001) Även faktorer så som kön, ålder, fysisk aktivitet, nutritionsstatus, dräktighet, laktationsstatus m.fl. spelar in för antalet cirkulerande erythrocyter. Hos människor har kvinnor oftast färre erythrocyter per volymenhet än män eftersom testosteron har en stimulerande effekt på erythrocytproduktionen. Detta har även beskrivits hos hundar men skillnaderna är små och saknar praktisk betydelse. Mogna erythrocyter saknar cellkärna och är oförmögna till celledelning varför produktionen av nya erythrocyter, erythropoesen, sker genom delning av kärnförande stamceller. (Sjaastad *et al.* 2010)

2.1.1. Erythropoesen

Erythropoesen innebär en proliferation av hematopoetiska stamceller till hemoglobinförande röda blodkroppar. Den tidigaste identifierbara erytroida cellen är rubriblasten. (Weiss *et al.* 2010) Målet med erythropoesen är att säkerställa att antalet erythrocyter som cirkulerar i blodet är tillräckligt för att upprätthålla syretransporten till alla kroppens vävnader. (Sjaastad *et al.* 2010) Erythropoesen är en dynamisk process som kontrolleras av syretrycket i blodet. (Tsiftoglou *et al.* 2009) Kroppens svar på systemisk hypoxi är en ökning i produktionen av röda blodkroppar. Detta svar medieras av hypoxi-inducerbara faktorer genom att inducera celltypiska genuttryck som resulterar i en ökning av erythropoetin-produktionen i njurarna och levern. (Haase 2013) Erythropoetin produceras främst av peritubulära interstitiella fibroblaster i njuren hos vuxna djur men även levern kan tillverka en liten mängd vid anemi. (Weiss *et al.* 2010) I njuren återfinns dessa celler som producerar erythropoetin framförallt i kortex (framförallt juxtamedullära regionen) och i yttre medulla.

(Haase 2013) Erytropoesen och nivån av röda blodkroppar påverkas även av hormoner från binjurarna, sköldkörteln, äggstockarna, testiklarna och främre hypofysen. (Rebar *et al.* 2001)

Efter utsläpp i cirkulationen transporteras erythropoetin till benmärgen där det accelererar delningen och mognaden av omogna erytroida prekursorer. (Sjaastad *et al.* 2010) Retikulocyter representerar det sista mognadsstadiet före färdig erytrocyt. Retikulocyter är omogna, makrocytära erytrocyter som fortfarande har kvar ribosomer för hemoglobinsyntes i cytoplasman. (Weiss *et al.* 2010) Ett par dagar efter den ökade produktionen av erythropoetin ses en ökning av mer eller mindre omogna röda blodkroppar i det perifera blodet bland annat antalet retikulocyter (retikulocytos). (Weiss *et al.* 2010) Vid förhöjt antal retikulocyter utan pågående anemi bör bland annat dålig syresättning av blodet misstänkas. (Hillström *et al.* 2010)

Det är viktigt att komma ihåg att det inte är antalet erytrocyter i blodet som påverkar sekretionen av erythropoetin utan om syretransporten är anpassad för vävnadens behov av syre. Om man utsätter djur experimentellt för en atmosfär med lågt syretryck kommer njurarna öka produktionen av erythropoetin inom några minuter och efter 2-3 dagar kommer fler erytrocyter frigöras till blodbanan från benmärgen. Denna mekanism tillåter blodet att transportera tillräckliga nivåer av syre på höga altituder även om varje enskild erytrocyt transporterar mindre syre. Om djuret sedan återgår till en miljö med normalt syretryck kommer produktionen av erythropoetin stanna av tills destruktionsen av erytrocyter har fortgått till en sådan nivå att syretransporten åter överensstämmer med kroppens behov. (Sjaastad *et al.* 2010)

2.1.2. Erythrocytos/polycytemi

Erythrocytos definieras som en ökning av cirkulerande röda blodkroppar, hemoglobinhalt och hematokrit enligt etablerade referensvärden. I de flesta fall är termen erythrocytos utbytbar med termen polycytemi men inom humanmedicin används ibland polycytemi för att beskriva inte bara erythrocytos utan även en ökning av vita blodkroppar och blodplättsvärden. (Weiss *et al.* 2010) Referensvärden för hematokrit, hemoglobinkoncentration och red blood count (RBC) kan bland annat variera med geografisk lokalisering. Exempelvis har djur på altituder över 1800 meter högre blodvärden än de på havsnivå. Brakycéfala hundraser har även angetts ha högre hematokrit än normocefaliska raser. (Rebar *et al.* 2001) Graden av kliniska fynd hos polycytemiska djur är proportionell mot överskottet av röda blodkroppar. Vid hematokritnivåer >65 % uppstår hyperviskositet, dålig perfusion och nedsatt syresättning i vävnader. (Rebar *et al.* 2001) Kliniska fynd för både primär och sekundär erythrocytos inkluderar erytem av mukösa membran, neurologiska störningar

(letargi, ataxi, svaghet, blindhet, beteendeförändringar), blödningsepisoder (epistaxis, hematemesis, melena, hematuri) eller polyuri och polydipsi. (Weiss *et al.* 2010)

Erythrocytos kan delas upp i olika typer:

- Relativ erythrocytos är den vanligaste formen av erythrocytos hos hundar och katter. (Weiss *et al.* 2010) Detta uppstår på grund av en minskning av plasmavolymen vanligtvis associerat till dehydrering vilket ger en relativ ökning av cirkulerande röda blodkroppar. (Rebar *et al.* 2001; Weiss *et al.* 2010) Relativ erythrocytos kan även orsakas av mjältkontraktion vilket frigör röda blodkroppar till cirkulationen. Detta kan ske hos stressade eller exalterade hundar eller katter och nivåerna normaliseras i dessa fall inom en timme. (Rebar *et al.* 2001)
- Absolut erythrocytos karaktäriseras av en ökning av antalet cirkulerande blodkroppar till följd av en ökad benmärgsproduktion. Denna kan vidare delas in i primär eller sekundär absolut erythrocytos. Primär absolut polycytemi/erythrocytos (polycythemia rubra vera) är en ovanlig myeloproliferativ sjukdom som karaktäriseras av en okontrollerbar produktion av mogna röda blodkroppar. (Rebar *et al.* 2001) Behandlingen hos människa inkluderar benmärgssuppressiva läkemedel och medicin för att förhindra trombos. (Stuart & Viera 2004) Hos hundar är det framförallt tikar som uppvisar primär erythrocytos. (Weiss *et al.* 2010) Sekundär polycytemi/erythrocytos orsakas av en fysiologisk frisättning av erytropoetin till följd av kronisk hypoxi. Orsaker bakom detta kan exempelvis vara kronisk lungsjukdom, hjärtsjukdom, methemoglobinemi eller nedsatt blodtillförsel till njuren. Sekundär polycytemi/erythrocytos kan även ses vid normal syresaturation men en ökad erytropoetinproduktion till följd av sjukdomar såsom en renal cysta eller tumör, feokromocytom, leverneoplasi med flera. (Rebar *et al.* 2001)

2.2. Mätinstrument

Det finns olika sätt att mäta erythrocytmassan: hemoglobinhalten, erythrocytvolymsfraktionen (hematokrit) och erythrocytpartikelkoncentrationen. Analys av hemoglobinkoncentrationen är en av de vanligaste klinisk-kemiska undersökningarna och görs vanligtvis med ett hematologiinstrument. Hemoglobinkoncentrationen anges i gram hemoglobin per liter blod. Erythrocytvolymsfraktionen (hematokrit) är den volym som blodcellsmassan utgör i ett centrifugerat blodprov. Denna kan bestämmas genom analys i ett hematologiinstrument eller genom manuell mikrohematokrit. Hematokrit anges i SI-enheten l/l men kan också anges i procent. Räkningen av röda blodkroppar (RBC) görs antingen i ett hematologiinstrument eller i Bürkers

räknekammare med mikroskop. Även med erfaren och tränad personal ger räkningen i mikroskop relativt stort metodfel (5-10 %). Man kan räkna antalet retikulocyter med hematologiinstrument eller manuell räkning. Vid manuell räkning behöver blodet färgas med en specialfärgning – metylenblå. (Rebar *et al.* 2001; Weiss *et al.* 2010) Manuell räkning tar lång tid och associeras med en hög grad metodfel. (Smith & Jarecki 2011) Man räknar antalet retikulocyter per 1000st röda blodkroppar och svaret man får är i procent. Detta värde blir beroende av det totala antalet röda blodkroppar och därför är absolut retikulocytantal det bästa sättet att kvantifiera regeneration vid en anemi. Absolut retikulocytantal räknas ut genom att multiplicera procentantalet retikulocyter med RBC och anges i $10^9/l$. (Rebar *et al.* 2001; Weiss *et al.* 2010) Antalet retikulocyter är en indirekt indikator på benmärgens erythropoetiska aktivitet. (Smith & Jarecki 2011)

2.3. Brakycefali

Termen brakycefali hänvisar till hundar eller katter av raser med liknande ansiktskonformation som innebär en kraftig förkortning av nosen och underliggande benstruktur. (Bannasch *et al.* 2010) Raser som vanligtvis är drabbade inkluderar engelsk och fransk bulldog, mops, bostonterrier, pekingese, yorkshire terrier och chihuahua. (Meola 2013) Brakycefala hundraser har kortare och bredare skalle än mesocefaliska och doliocefaliska raser vilket leder till en ihoptryckt nasalpassage (Dupré & Heidenreich 2016) och abnormal anatomi i farynx. (Pichetto *et al.* 2015) Den avvikande skallkonformationen ger ett överskott av mjukdelar i de övre luftvägarna med brakycefalt obstruktivt syndrom (BOAS) som en vanlig följd. (Downing & Gibson 2018) Brakycefalt obstruktivt syndrom är en progressiv luftvägssjukdom som uppstått till följd av en rad anatomiska abnormaliteter. (Packer *et al.* 2015b)

Anatomiska förändringar som frekvent ses hos hundar med BOAS är:

- Stenotiska näsborrar. Detta är ett resultat av en kongenital malformation av det nasala brosket vilket orsakar en medial kollaps av näsvingen. (Meola 2013) Stenotiska näsborrar ses hos 17-77 % av alla brakycefala hundar. (Fasanella *et al.* 2010) En större studie visade att prevalensen av stenotiska näsborrar hos franska bulldoggar var 75,4% medan prevalensen hos mopsarna låg på 65,3 %. (Liu *et al.* 2017)
- Hyperplasi av mjuka gommen. Mjuka gommen sträcker sig normalt till toppen av epiglottis men hos brakycefala hundraser kan den sträcka sig förbi epiglottis. (Meola 2013) En hyperplasi av mjuka gommen ses hos 62-100 % av brakycefala hundar. (Fasanella *et al.* 2010)

- Everterade tonsiller ses hos 9-56 % av de brakycefala hundarna och utåtvrängda slemhinnefickor ses hos 53-66 %. Båda dessa anatomiska abnormaliteter bidrar till en ökad vävnadsmängd i svalget och en förträngning av larynx. (Fasanella *et al.* 2010)

Sammantaget orsakar ovanstående anatomiska avvikelser ett ökat luftmotstånd vid inspiration. (Drobatz *et al.* 2018) För att upprätthålla tillräckliga syrenivåer måste brakycefala hundar producera ett högre negativt tryck genom ökad ansträngd andning distalt om motståndet. (Koch *et al.* 2003)

Typiska kliniska tecken hos hundar med brakycefalt obstruktivt syndrom inkluderar missljud vid andning, snarkningar, hosta, motionsintolerans, ökad respiratorisk ansträngning, hypertermi och syncope. (Meola 2013) Symtomen vid brakycefalt obstruktivt syndrom kan förvärras om patienten är överviktig eller vid stressiga situationer som ex överhettning, upphetsning och träning. (Fasanella *et al.* 2010)

I svåra fall av brakycefalt obstruktivt syndrom kan hundarna drabbas av akut pulmonärt ödem vilket kan liknas vid post-obstruktivt pulmonärt ödem som finns beskrivet hos människa. (Udeshi *et al.* 2010) Dysfagi, kräkningar och regurgitationer är också vanliga kliniska tecken vid BOAS (Dupré & Heidenreich 2016). Det ökade negativa intrathorakala trycket tros vara en anledning till gastroesofagalreflux och de efterföljande regurgitationerna och kräkningarna kan bidra till inflammation i esofagus, farynx och larynx. (Dupré & Heidenreich 2016) Dessutom har brakycefala hundraser högre risk att utveckla kardiovaskulära sjukdomar än hundar med normal skullform. (Crane *et al.* 2017)

2015 publicerades en studie som hade till syfte att ta fram ett objektiva och icke-invasiva sätt att gradera brakycefalt obstruktivt syndrom. En fyrgradig skala togs fram där grad 0 bedömdes som asymptomatiska och grad 3 ansågs vara kraftig påverkade och kirurgisk åtgärd rekommenderades. Hundar som bedömts vara grad 2-3 benämndes som BOAS (+) och de som bedömts som grad 0-1 som BOAS (-) (Liu *et al.* 2015). En liknande studie visade att av de brakycefala hundar som bedömts ha öppna/lindrigt stenotiska näsborrar var enbart 25 % BOAS (+) men de som bedömdes ha måttligt/kraftigt stenotiska näsborrar var 70 % BOAS (+). I samma studie bedömdes 65,3 % av mopsarna vara påverkade av brakycefalt obstruktivt syndrom i någon grad och 58,9 % av de franska bulldoggarna. (Liu *et al.* 2017)

2.3.1. Obstruktiv sömnapné hos människa

På grund av patofysiologiska likheter mellan obstruktiv sömnapné (OSA) och brakycefalt syndrom har engelska bulldoggar använts som modell för human sömnapné. (Hendricks *et al.* 1987) Obstruktiv sömnapné är en vanlig sjukdom som drabbar 2-4 % av vuxna i medelåldern. (Young *et al.* 1993) Sjukdomen karaktäriseras

av upprepade förträngningar eller kollapser av farynx under sömn. Dessa avbrott i andningen leder till intermittenta blodgasstörningar (hyperkapni och hypoxemi) vilket ger en aktivering av sympatiska nervsystemet. (Eckert & Malhotra 2008) Anatomiskt trånga övre luftvägar i kombination med en överdriven förlust av muskeltonus och nedsatt reflexer i de övre luftvägarna vid sömn är avgörande för utvecklandet av sjukdomen. (Sacchetti & Mangiardi 2012) Patienter med OSA har ökad risk för flera cirkulatoriska sjukdomar exempelvis: hypertension, arytmier, höger- och vänstersidig hjärtsvikt, hjärtattack och stroke. (Strollo & Rogers 1996) Den underliggande patofysiologin till sjukdomen är multifaktoriell och varierar mellan individer (Eckert & Malhotra 2008) och predisponerande faktorer hos människa inkluderar en förträngning av luftvägarna, övervikt och liknande abnormaliteter som rapporterats hos de engelska bulldoggarna. (Hoareau *et al.* 2012) Obstruktiv sömnapné har även associerats med nedsatt överlevnad till följd av kardiovaskulära och tromboemboliska sjukdomar. (Crane *et al.* 2017)

2.3.2. Likheter mellan, och riskfaktorer för, BOAS och OSA

Hundar som är affekterade av BOAS uppvisar likheter med som humana patienter drabbade av obstruktiv sömnapné. Humana patienter uppvisar också ökat motstånd vid inspiration vilket förvärras under sömn på grund av episoder av luftvägsobstruktion och lägre syremättnad vilket leder till kronisk intermittent hypoxi. (Drobatz *et al.* 2018) I en studie med 7 stycken engelska bulldoggar kunde man se att dessa hade långa perioder under sömn där syremättnaden i blodet var lägre än 90 %. (Hendricks *et al.* 1987) Liknande fynd har rapporterats hos människor med sömnapné. (Eckert & Malhotra 2008)

Kliniska karaktäristika som rapporterats hos både brakycefala hundar och människor med sömnapné inkluderar: snarkningar (Eckert & Malhotra 2008; Fasanella *et al.* 2010), förträngning av de övre luftvägarna (Schwab *et al.* 1995; Fasanella *et al.* 2010) samt lång mjuk gom och hypertrofierade/everterade tonsiller (Strollo & Rogers 1996; Fasanella *et al.* 2010)

Angående kön som riskfaktor för utvecklandet av brakycefalt syndrom hos hundar är resultaten tvetydiga. Hos mopsar anges tikarna ha högre risk för att utveckla sjukdom än hanarna men hos fransk bulldog var resultatet det motsatta. (Liu *et al.* 2017) Hos människor däremot har flera studier visat att män är överrepresenterade även om skillnaden i prevalensen mellan män och kvinnor minskade efter klimakteriet. (Young *et al.* 2004; Cowie 2017)

Ytterligare en riskfaktor för obstruktiv sömnapné hos människa är kraftig övervikt och ungefär 40-60 % av patienterna bedöms vara överviktiga. (Cowie 2017) Studier har visat att en 10 % viktökning gav en 6 gånger högre risk att utveckla obstruktiv

sömnapné. (Young *et al.* 2004). Övervikten ökar risken för övre luftvägskollaps genom en ökad mekanisk belastning på de övre luftvägarna. (Cowie 2017) Liknande fynd har rapporterats hos hundar där en studie på bland annat mopsar visade att det fanns en klar trend att hundar med högre grad av BOAS tenderade att ha högre body condition score (BCS) och det ansågs vara en signifikant riskfaktor. Hos franska bulldoggar kunde detta samband inte påvisas eftersom enbart 8,4 % av hundarna var överviktiga jämfört med 60,8 % hos mopsarna. Då en övervägande del av de överviktiga franska bulldoggarna var BOAS (+) påpekade dock författarna att övervikt inom rasen inte ska ignoreras som riskfaktor. (Liu *et al.* 2017) Övervikt hos brakycefala hundraser har även angetts som riskfaktor för utvecklandet av brakycefalt syndrom i andra studier. (Liu *et al.* 2016; Packer *et al.* 2015a)

Brakycefala hundraser har visats ha lägre arteriella blodsyrnivåer, högre koldioxidnivåer och lider oftare av hypertension än meso- och doliocefaliska hundraser. (Hoareau *et al.* 2012) Dessa avvikelser har även observerats hos människor med obstruktiv sömnapné. (Martinez & Faber 2011) De senaste 20 åren har obstruktiv sömnapné associerats med hyperkoagulabilitet vilket även ansetts vara en viktig faktor som sammankopplar obstruktiv sömnapné med kardiovaskulära komplikationer. Samma studie har också visat att hundar som är kraftigt påverkade av brakycefalt syndrom även tenderar att vara mer hyperkoagulabla än en icke-brakycefal kontrollgrupp. (Crane *et al.* 2017) Hos människor kopplas hyperkoagulabilitet med medel till svår obstruktiv sömnapné vilken observerats vara reversibel vid behandling. (Hong *et al.* 2017)

2.3.3. Hematologiska förändringar BOAS och OSA

Hypoxiska tillstånd associeras med ökade hematokritnivåer. Detta ses bland annat hos människor som tränar på höga höjder som kompensation för det låga syrettrycket i luften. (Suchý *et al.* 2015) Även obstruktiv sömnapné anses kunna leda till sekundär polycytemi eller erythrocytosis till följd av den karaktäristiska intermittenta hypoxin. Man har även kunnat se ett samband mellan graden av sömnapné och patienternas hematokritnivå. (Choi *et al.* 2006) Ett flertal andra studier har undersökt liknande hypoteser men studiepopulationerna har ofta varit små och resultaten varierande. (Moore-Gillon *et al.* 1986; Messinezy *et al.* 1991; Carlson *et al.* 1992) För brakycefala hundar gjorde Crane *et al.* (2017) en studie som visade att hematokriten hos hundar med kliniska symptom på brakycefalt syndrom var högre än hos kontrollgruppen. Studien kunde däremot inte konstatera om detta berodde på kronisk hypoxi eller om det var normal hemokoncentration till följd av respiratorisk förlust av kroppsvätska. Resultatet stämmer däremot överens med vad Hoareau och Mellem (2015) konstaterat i sin studie i vilken den brakycefala gruppen (vilken bestod av mopsar, boston terriers, franska och engelska bulldoggar) hade signifikant högre hematokrit ($48 \pm 4 \%$) jämfört med kontrollgruppen ($44 \pm 5 \%$).

3. Material och metod

3.1. Material

Denna studie är genomförd som en retrospektiv journalstudie. Materialet som använts är journaler från hundar (mops, fransk bulldog och en kontrollgrupp) som besökt SLU universitetsdjursjukhuset (UDS) eller någon av Anicura-klinikerna: Albano, Bagarmossen eller Roslagen och som genomgått hematologisk undersökning. Till de brakycefala hundgrupperna valdes raserna mops och fransk bulldog då detta är två vanligt förekommande brakycefala raser som i hög grad beskrivits vara drabbade av BOAS. Vid journalsökningen sattes tidsspannet 1998-01-01 till 2020-11-30. Erytrocytparametrar som samlades in var hematokrit, hemoglobinkoncentration och i de fall det fanns angivet även retikulocyter (absolut antal). Inklusionskriterier var hundar som vid veterinärundersökningen bedömts ha normalt allmäntillstånd, normal kroppstemperatur och inte uppvisade tecken på uttorkning (förlängd CRT, klibbiga/torra slemhinnor eller förlängda hudturgor). Exklusionskriterier var tecken på systemisk sjukdom som misstänks kunna påverka erytrocytparametrarna (ex maligna neoplasier, endokrin sjukdom m.fl) eller medicinering de senaste 4 veckorna innan provtagning. Hundarna med ett värde på C-reaktivt protein utanför det normala referensområdet uteslöts också. Hundarna till kontrollgruppen valdes ut på samma sätt men hänsyn togs även till vikt (<25 kg) för att få så likvärdiga grupper som möjligt.

3.2. Metod

Blodproverna har analyserats med hematologiinstrument Advia 2120i (Siemens Healthineers), Procyte (IDEXX) eller Sysmex beroende på vilken klinik som utfört analysen. Samtliga instrument använder sig av en spektrofotometrisk metod vid analys av hemoglobinkoncentration. För analys av RBC, MCV och MCHC använder sig Advia av en laserbaserad flödescytometri medan Procyte/Sysmex använder sig av elektronisk impedans. Vid laserbaserad flödescytometri passerar cellerna genom en laserstråle och absorberar och reflekterar ljus. Antalet avbrott i ljusstrålen används som mått på antalet celler och förändringar i reflektionen används för att

bestämma cellernas storlek och utseende. Vid användning av impedansmetoden späder man provet med en elektrolytlösning som sedan passerar mellan två elektroder. Celler är dåliga på att leda elektricitet vilket ger att varje gång en cell passerar mellan elektroderna kan man registrera en förändring i impedansen. Denna förändring är proportionell till cellens storlek och på detta sätt kan man bestämma antal celler och deras storlek. Hematokriten räknas ut med hjälp av red bloodcell count (RBC) och MCV enligt formeln $(RBC \times MCV) / 10$. Retikulocyter mäts genom infärgning med en specialfärg som färgar in RNA. Vilken färg som har använts varierar beroende på vilket instrument som använts.

Statistik

Studien har använt linjär analys för att identifiera korrelation mellan hundgrupperna (mops, fransk bulldogg och kontroller) och hematologisk data med hjälp av ett kommersiellt mjukvaruprogram (JMP Pro v. 11.2.0). Hematologiska data användes som resultat (beroende) variabel och hundgrupper som förklarande (oberoende) variabel. Kvantitativa, kontinuerliga, variabler presenteras som medianvärden och kvartilavstånd (inter quartile range IQR) samt medelvärden och standardavvikelsen (SD). Nivån för statistisk signifikans sattes till $P < 0.05$. Skillnader i hematologisk data mellan grupperna analyserades med students t-test (en-sidig med antagande om lika varians, $p < 0,05$). För jämförelse av blodvärden mellan åldersgrupperna så delades testgrupperna in i åtta olika grupper: 0-12, 13-24, 25-36, 37-48, 49-60, 61-84, 85-108, 109+ månader. Åldersgrupperna jämfördes inom testgruppen med one way ANOVA-test och om signifikant skillnad påvisades utfördes T-test för att se vilka åldersgrupper som skiljde sig från varandra. Analyserna utfördes i Minitab och Excel.

Litteratursökning

För att hitta litteratur till studien användes databaserna Pubmed, Google scholar och Primo. Sökord som användes var (brachycephalic OR BOAS OR sleep apnea) AND (hematology OR erythrocytosis OR polycythemia) i kombination med (dog OR canine).

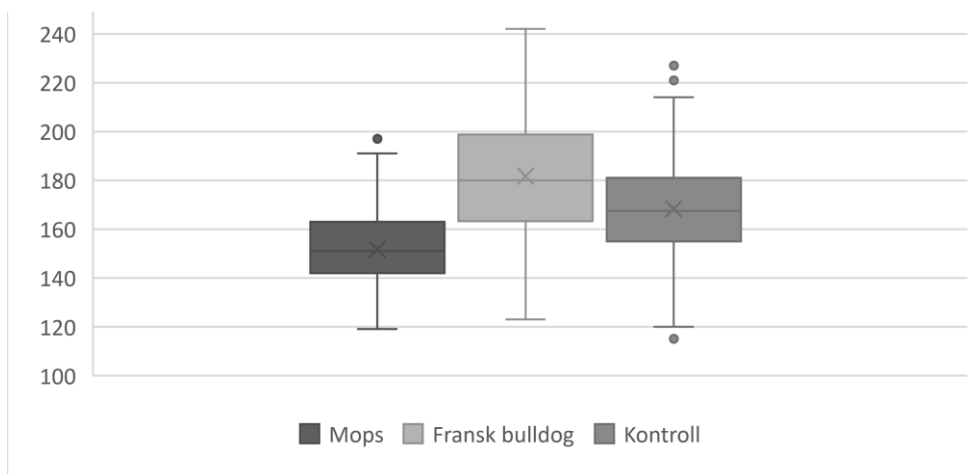
4. Resultat

I denna studie inkluderades totalt 118 stycken mopsar, 148 st franska bulldoggar och 164 stycken kontrollhundar. Könsfördelningen var jämn och 57,6 % av mopsarna, 54 % av de franska bulldoggarna och 55,5 % av individerna i kontrollgruppen var hanar. Medelåldern vid provtagning i de olika grupperna var: 57 månader (mops), 54 månader (fransk bulldog) och 84 månader (kontrollgruppen). I kontrollgruppen ingick 59 stycken olika raser och de vanligaste var blandras (n=26), chihuahua (n=13), cocker spaniel (n=8) och pudel (n=8). Medelvikten för kontrollgruppen var 10,2 kg.

4.1. Hemoglobin

Hemoglobinkoncentrationen skiljde sig signifikant mellan grupperna men samtliga låg inom normala referensintervall. Mopsarna hade ett medelvärde på hemoglobinkoncentrationen på 151 g/L jämfört med 181,6 g/L hos de franska bulldoggarna och 168,2 g/L i kontrollgruppen. Mopsarna hade signifikant lägre hemoglobinkoncentration jämfört med kontrollgruppen ($p < 0,01$). De franska bulldoggarna hade signifikant högre hemoglobinkoncentration jämfört med kontrollgruppen ($p < 0,01$). I tabell 1 presenteras medianer och kvartilavstånd.

Figur 1. Boxplot över hemoglobinkoncentrationer (g/L) för rasgrupperna. Boxen visar övre och undre kvartil och medianvärdet representeras av linjen genom boxen. Prickarna utanför boxen är outliers.



Tabell 1. Medianer och kvartilavstånd avseende hemoglobinkoncentrationen i rasgrupperna.

Rasgrupp	Median (g/L)	Kvartilavstånd
Mops	151	142-163
Fransk bulldogg	180	163-199
Kontrollgrupp	167,5	155-181

De franska bulldoggarna provtagna på Bagarmossen hade signifikant högre hemoglobinkoncentration jämfört med de franska bulldoggarna som var provtagna på UDS ($p < 0,05$ resp $p < 0,01$). Tabell 2 redovisar medelvärdena avseende hemoglobinkoncentrationer för de olika klinikerna.

Tabell 2. Medelvärden avseende hemoglobinkoncentration(g/L) för rasgrupperna undersökta vid de olika klinikerna.

Klinik inkl referensintervall	Kon- troll- grupp	Mops	Fransk bulldogg
Albano (131-205)	166,4	151,2	184,0
Bagarmossen (145-200)	172,1	157,3	189,2
Roslagen (131-205)	166,7	154,7	183,8
UDS (132-199)	166,0	148,1	174,2

Fåtalet skillnader kunde fastställas statistiskt mellan könen inom rasgrupperna. De franska bulldoggstikarna hade signifikant högre hemoglobinkoncentration jämfört med hanarna ($p < 0,05$).

Tabell 3. Medelvärden för hemoglobinkoncentration mellan könen inom de olika rasgrupperna.

Rasgrupp	Tik (g/L)	Hane (g/L)
Kontroll	169,2	167,4
Mops	151,1	152,1
Fransk bulldogg	185,4	178,5

Gruppen med fransk bulldogg visade en signifikant skillnad i hemoglobinkoncentration mellan åldersgrupperna vid ANOVA-test och T-test visade att de individer som var 0-12 månader vid provtagning hade signifikant lägre hemoglobinkoncentration jämfört med samtliga av de övriga åldersgrupperna. Åldersgrupperna 37-48 månader och 49-60 månader hade dessutom signifikant högre värden hemoglobinkoncentration jämfört med de som var > 109 månader. Tabell 4 visar medelvärden för de olika åldersgrupperna inom fransk bulldogg.

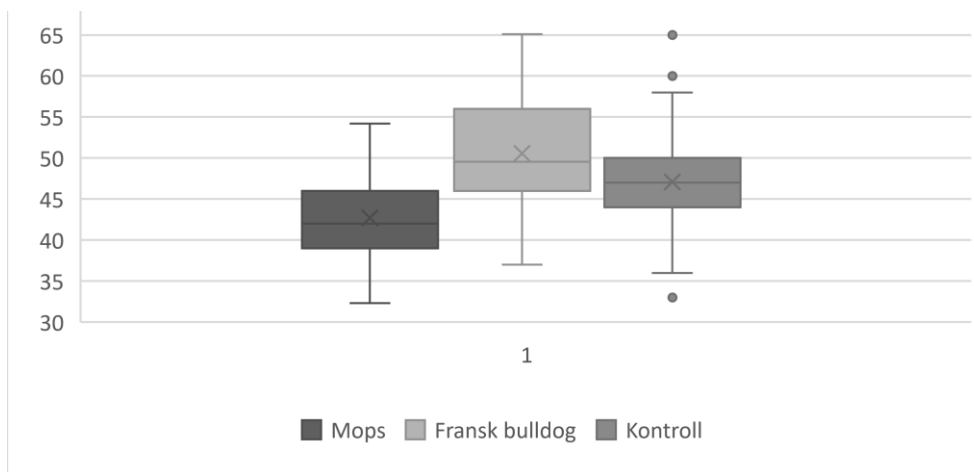
Tabell 4. Medelvärden för hemoglobinkoncentrationer hos de olika åldersgrupperna av fransk bulldogg.

Ålder (månader)	Hemoglobin (g/L)
0-12	155,2
13-24	184,4
25-36	188,4
37-48	190,9
49-60	192,1
61-84	188,0
85-108	178,7
109+	178,7

4.2. Hematokrit

Liknande resultat som för hemoglobinkoncentrationen kunde visas för uppmätta hematokriter och även här låg alla inom normala referensintervall. Mopsarna hade ett medelvärde på 42,7 % jämfört med 50,6 % (fransk bulldogg) och 47,1 % (kontrollgruppen). Även här var mopsarnas värden signifikant lägre ($p < 0,01$) än kontrollgruppen och de franska bulldoggarnas signifikant högre ($p < 0,01$). I tabell 5 presenteras medianer och kvartilavstånd.

Figur 2. Boxplot över hematokriter (%) för rasgrupperna. Boxen visar övre och undrekvartil och medianvärdet representeras av linjen genom boxen. Prickarna utanför boxen är outliers.



Tabell 5. Medianer och kvartilavstånd med avseende på hematokriter i rasgrupperna.

Rasgrupp	Median (%)	Kvartilavstånd
Mops	42	39-46
Fransk bulldogg	49,6	46-56
Kontrollgrupp	47	44-50

Ingen signifikant skillnad i hematokrit för rasgrupperna kunde påvisas mellan klinikerna.

Tabell 6. Medelvärden avseende hematokrit (%) för rasgrupperna undersökta vid de olika klinikerna.

Klinik Inkl referensintervall	Kontroll	Mops	Fransk bulldogg
Albano (37-62)	46,6	42,0	50,5
Bagarmossen (41-57)	47,0	43,2	50,9
Roslagen (37,3-61,7)	46,7	42,7	50,4
UDS (38-57)	47,8	43,4	50,5

Inga skillnader sågs i hematokritnivåer avseende kön inom rasgrupperna.

Tabell 7. Medelvärden för hematokrit mellan könen inom de olika rasgrupperna.

	Tik (%)	Hane (%)
Kontroll	47,4	46,8
Mops	42,6	42,8
Fransk bulldog	51,3	49,9

För fransk bulldogg sågs en signifikant skillnad mellan åldersgrupperna. De individer som vid provtagning var 0-12 månader hade signifikant lägre hematokrit jämfört med samtliga av de övriga åldersgrupperna. Åldersgrupperna 37-48 månader och 49-60 månader hade däremot signifikant högre hematokrit jämfört med de som var > 109 månader. Tabell 9 visar medelvärden för de olika åldersgrupperna inom fransk bulldogg.

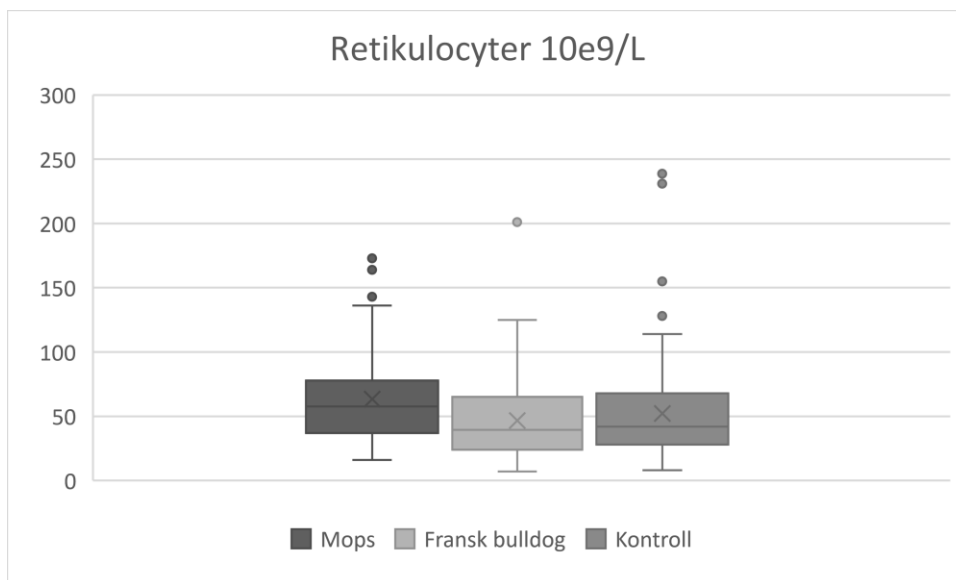
Tabell 8. Medelvärden avseende hematokriter hos de olika åldersgrupperna av fransk bulldogg.

Ålder (månader)	Hematokrit (%)
0-12	43,7
13-24	50,9
25-36	52,7
37-48	53,5
49-60	53,6
61-84	51,3
85-108	49,8
109+	50,1

4.3. Retikulocyter

Avseende retikulocytantal uppvisade mopsarna ett medelvärde på $63,3 \times 10^9/L$ jämfört med $46,7 \times 10^9/L$ för de franska bulldoggarna och $52,1 \times 10^9/L$ för kontrollgruppen. Det kunde även fastställas statistiskt att mopsarna hade högre retikulocytantal jämfört med kontrollgruppen ($p < 0,05$). För de franska bulldoggarna kunde däremot inte någon skillnad i retikulocytantal fastställas statistiskt jämfört med kontrollgruppen ($p > 0,05$). I tabell 9 presenteras medianer och kvartilavstånd.

Figur 3. Boxplot över retikulocytantal för rasgrupperna. Boxen visar övre och undrekvartil och medianvärdet representeras av linjen genom boxen. Prickarna utanför boxen är outliers.



Tabell 9. Medianer och kvartilavstånd avseende retikulocytantal i rasgrupperna.

	Median (10e9/L)	Kvartilavstånd
Mops	57,6	37,6-77,8
Fransk bulldogg	39,5	24-65
Kontrollgrupp	42	28-67

Individerna i kontrollgruppen samt de franska bulldoggarna som var provtagna på Bagarmossen hade signifikant högre retikulocytantal jämfört med de som var provtagna på UDS ($p < 0,01$). Samma resultat visades även för de franska bulldoggarna provtagna på Bagarmossen jämfört med de provtagna på Roslagen ($p < 0,05$). I tabell 10 redovisas medelvärden för retikulocytantal på de olika klinikerna.

Tabell 10. Medelvärden avseende retikulocytantal ($10^9/L$) för rasgrupperna undersökta vid de olika klinikerna.

Klinik	Kontroll	Mops	Fransk bulldogg
Albano	-	-	-
Bagarmossen	64	76,4	67,2
Roslagen	58,1	62,9	37,4
UDS	35,6	63,3	36,9

Ingen signifikant skillnad sågs med avseende på retikulocytantal mellan könen inom de olika rasgrupperna. Inga skillnader kunde heller påvisas mellan de olika åldersgrupperna inom rasgrupperna. I tabell 11 redovisas medelvärden för retikulocytantal för de olika könen i de olika grupperna.

Tabell 11. Medelvärden för retikulocytantal mellan könen inom de olika rasgrupperna.

	Tik ($10^9/L$)	Hane ($10^9/L$)
Kontroll	54,2	50,3
Mops	63,5	63,1
Fransk bulldog	44,9	48,2

4.4. Diagnoskoder

Nedanför anges hur fördelningen av diagnoskoder sett ut inom de olika grupperna.

Tabell 12. Fördelning av angivna diagnoskoder för de olika rasgrupperna.

	Mops	Fransk bulldogg	Kontrollgrupp
A – Hela djuret	29,7 %	31,8 %	27,4 %
C – Cirkulationsorgan, blod, blodbild organ, lymfkärl och lymfkärl sjukd	2,5 %	2,7 %	0,6 %
D – Digestionsorg, bukhåla, bukvägg, bäckenhåla perinealreg sjd	14,4 %	19,6 %	17,0 %
E – Endokrina systemets sjukdomar	0,8 %	-	-
H – Hudens, underhudens, klons och hovens sjukdomar	5,9 %	8,1 %	17,0 %
K – Könsorg sjd dräktighet, förlossn/puerperiet fortplan/uppfödn	3,4 %	-	-
L – Ledernas och ligamentens sjukdomar	2,5 %	8,1 %	17,7 %
M – Muskulaturens, senornas, senskidornas och bursornas sjukd	-	0,7 %	-
N – Nervsystemets sjukdomar	12,7 %	4,7 %	8,5 %
R – Respirationsorganens och brösthålans sjukdomar	18,6 %	14,2 %	1,8 %
S – Skelettets sjukdomar	0,8 %	4,7 %	4,9 %
U – Urinorganens sjukdomar	3,4 %	0,7 %	1,2 %
X – XB10 Kastration (NK, OHE) behandling	0,8 %	-	-
Z - Öronsjukdomar	-	2,7 %	-
Ö – Ögats sjukdomar	4,2 %	1,4 %	3,7 %

5. Diskussion

Denna studie syftade till att undersöka om de påståenden som tidigare angivits i litteratur angående att brakycefala hundar har högre blodvärden än icke-brakycefala hundar stämmer. I litteraturdelen togs flera likheter upp mellan brakycefala hundar och människor med obstruktiv sömnapné. Studier på människa med obstruktiv sömnapné har visat att dessa har högre hemoglobinkoncentration och hematokrit jämfört med en frisk kontrollgrupp (Krieger *et al.* 1992; Choi *et al.* 2006) varför ett liknande resonemang skulle kunna appliceras på de brakycefala hundarna. De flesta studier inkluderar flera av de olika brakycefala raserna i samma grupp och jämför dessa med en grupp icke-brakycefala hundar. I denna studie jämfördes mopsar och franska bulldoggar var för sig med en kontrollgrupp av liknande vikt och storlek – detta för att få hundar som har en jämförbar livsstil med våra brakycefala grupper bland annat avseende på motion.

5.1. Hemoglobin och hematokrit

Eftersom hemoglobinkoncentration och hematokrit ska följa varandra hos friska patienter diskuteras resultatet för dessa gemensamt.

Studien visade att medelvärdena för hemoglobinkoncentrationen skiljer sig markant mellan alla rasgrupperna i denna studie. Gruppen med mopsar hade ett medelvärde för hemoglobinkoncentrationen på 151.7 g/L medan gruppen med fransk bulldogg hade ett medelvärde på 181.6 g/L. Detta jämförs med medelvärdet för kontrollgruppen vilket låg på 168.2 g/L. Ingen av grupperna uppvisar ett medelvärde som ligger över givna referensvärdena men gruppen med fransk bulldogg tenderar att ligga i det övre referensintervallet. Gruppen med fransk bulldogg var den enda som hade signifikant ($p < 0,01$) högre hemoglobinkoncentration jämfört med kontrollgruppen. Dessa resultat stödjer de påståenden som ligger till grund för denna studie och har även visats i en studie av Hoareau *et al.* (2012). För gruppen med mopsar kunde det motsatta resultatet fastställas. Mopsarna hade signifikant lägre hemoglobinkoncentrationer jämfört med kontrollgruppen ($p < 0,01$). Mopsar anges vara påverkade av brakycefalt obstruktivt syndrom i högre grad än franska bulldoggar (Liu *et al.* 2017) och detta i kombination med tidigare resonemang an-

gående att hundar med kliniska symptom på brakycefalt syndrom har högre blodvärden ger att detta resultat var oväntat och eventuella förklaringar till dessa resultat diskuteras vidare nedan.

Medelvärdet för hematokriten hos gruppen med mopsar i denna studie låg på 42.7 % jämfört med 50.6 % hos fransk bulldogg och 47.1 % i kontrollgruppen. Även här tenderar gruppen med fransk bulldogg att ligga något över både kontrollgruppen och gruppen med mopsar även om skillnaden inte är lika kraftig som för hemoglobinkoncentrationen. Att de franska bulldoggarna hade högre hematokrit än kontrollgruppen kunde även fastställas statistiskt ($p < 0,01$). Detta resultat är något som även visats i studier utförda på människor med obstruktiv sömnapné (Choi *et al.* 2006) och på brakycefala hundraser. I en studie av Crane *et al.* (2017) var medelhematokriten signifikant högre ($p=0,02$) hos den brakycefala gruppen (47 ± 2 L/L) jämfört med kontrollgruppen ($42 \pm 2,5$ L/L). Hoareau & Mellema (2015) hade liknande resultat där inkluderade bulldoggar hade en hematokrit på 49 ± 5 % och kontrollgruppen hade 44 ± 5 %. Dessa resultat är väldigt lika resultaten som konstaterats i denna studie med avseende på de franska bulldoggarna i förhållande till kontrollgruppen.

Ökande ålder kan vara en orsak till lägre hematokrit vilket även påvisades i en studie av Radakovich *et al.* (2017). Kontrollgruppen i denna studie är ungefär två år äldre än de franska bulldoggarna och enligt tidigare resonemang skulle detta kunna förklara varför kontrollgruppen hade signifikant lägre hematokritvärde. Studien kunde dock inte påvisa några skillnader i hematokrit mellan de olika åldersgrupperna inom rasgrupperna och gav således inget stöd åt ovanstående resonemang. Gruppen med mopsar hade signifikant lägre hematokritnivåer än kontrollgruppen men mopsarna hade samma medelålder som gruppen med fransk bulldogg, vilket ytterligare förkastar ovanstående resonemang. Yngre hundar har också lägre hematokritnivåer jämfört med vuxna men förväntas nå liknande nivåer vid 6-12 månaders ålder. (Weiss *et al.* 2010; von Dehn 2014) I denna studie var det enbart de franska bulldoggarna som uppvisade denna åldersskillnad. En teori är att graden av kliniska symptom på brakycefalt obstruktivt syndrom förvärras ju äldre djuren blir i takt med att de får sämre syresättning. Som angetts tidigare fungerar en nedsatt syresättning av blodet som fysiologisk retning för att öka erytrocytproduktionen. Enligt denna teori skulle de franska bulldoggarna i denna studie vara påverkade av brakycefalt obstruktivt syndrom i högre grad än vad mopsarna är även om motsatsen konstaterats i tidigare studier. (Liu *et al.* 2017)

Referensvärden tas fram genom att undersöka ett stort antal hundar av varierande ras och storlek. Flera raser har däremot visats ha rasbundna avvikelser tillhörande blodbilden exempelvis har kliniskt friska Greyhounds rapporteras uppvisa förhöjda hematokritnivåer men även hemoglobinkoncentrationer jämfört med andra raser.

(Weiss *et al.* 2010) Rasbundna skillnader för hematologiska parametrar har även konstaterats hos akita (Weiss *et al.* 2010), labrador och beagle. (Brenten *et al.* 2016) I skrivande stund finns inga publicerade studier gjorda på eventuella rasbundna skillnader i hematologi utförda för fransk bulldog eller mops och rasbundna skillnader avseende hemoglobinkoncentration och hematokrit kan därför inte uteslutas. Optimalt hade givetvis varit att ta fram referensvärden för friska hundar för varje enskild ras.

Fåtalet signifikanta skillnader kunde påvisas mellan de olika klinikerna. Detta ger att vilken klinik individen är provtagen på med största sannolikhet inte kommer att påverka resultatet i denna studien. Olika kliniker kalibrerar sina instrument olika och därför är viss skillnad i uppmätta värden att förvänta sig. En förklaring till att vissa kliniker ändå uppvisat signifikanta skillnaderna mellan sig kan eventuellt förklaras av att olika typer av patienter uppsökt klinikerna beroende på deras specialistkompetens vilket kan ge att skillnader i hematologiska förändringar mellan kliniker kan bero på att patienterna har olika sjukdomstecken.

Den största svårigheten med denna studie var att hitta brakycefala hundar som passade givna inklusions- och exklusionskriterier. Eftersom studien är retrospektiv valdes individer ut efter undersökande veterinärs bedömning av hunden i journalen och tidigare sjukdomshistoria. Få djur provtas utan anledning och därför är en stor del av individerna i de brakycefala rasgrupperna provtagna på grund av sjukdom. Även om studiens exklusionskriterier syftade till att utesluta hundar med diagnoser som potentiellt påverkat blodbilden kan det inte uteslutas att sådana hundar inkluderats. Blodbilden för de brakycefala hundarna i denna studien antas dock vara påverkade av sjukdom i lika hög grad och därför borde hemoglobinkoncentrationer och hematokrit påverkas i motsvarande grad inom dessa två rasgrupper. Mopsarnas blodvärden var närmst jämförbara med kontrollgruppen även om de var signifikant lägre och därför kunde tidigare påstående om att alla brakycefala hundar har förhöjda blodvärden till följd av kronisk dyspné inte styrkas. En annan svårighet med studie var att hitta hundar till kontrollgruppen som inte klassificeras som brakycefala. I denna studie utgörs kontrollgruppen till 8 % av hundar av rasen chihuahua vilka även klassificeras som brakycefala. Önskvärt hade varit att jämföra dessa två raser (mops och fransk bulldog) som i hög grad är drabbade av BOAS med en kontrollgrupp där inga av de inkluderade hundarna kan klassificeras som brakycefala för att få fram ett så objektiva resultat som möjligt.

5.2. Retikulocyter

Till skillnad från resultaten för hemoglobinkoncentrationen och hematokrit där de franska bulldoggarna hade högre värden än kontrollgruppen kunde ingen sådan

skillnad påvisas när det kom till retikulocytantal. Det motsatta konstaterades för mopsarna vilka hade signifikant högre retikulocytantal i förhållande till kontrollgruppen ($p < 0,01$). En förklaring till detta kan vara att cirka en femtedel (18,6 %) av mopsarna fick en diagnoskod relaterad till respiratorisk lidande jämfört med de franska bulldoggarna där enbart en sjundedel (14,2 %) fick en liknande diagnos. En ökning av retikulocyter är ett fysiologiskt svar på anemi eller hypoxi. (Pattullo *et al.* 2015) Brakycéfala hundar har konstaterats ha svårare att syresätta sig än andra raser (Hoareau *et al.* 2012) och vid ytterligare luftvägslidande utsätts kroppen för hypoxisk stress vilket föranleder en frisättning av omogna erythrocyter till blodbanan. Detta förklarar dock inte varför mopsarna inte får högre hemoglobin-koncentration eller hematokrit till följd av den ökade utsöndringen av omogna erythrocyter. Harada *et al.* (2015) utförde en studie på möss där man konstaterade att vid exponering för hypoxi stiger antalet erytroida progenitorceller inom 12 timmar efter exponering men sjunker sedan till normala nivåer inom 2 dagar. Däremot kvarstod förhöjda hemoglobinkoncentrationer och hematokritvärde fram tills exponering avslutades. Men detta resonemang skulle man kunna tolka det som att mopsarnas hypoxi främst är akut karaktär medan de franska bulldoggarnas är av kronisk. Enbart tre av fyra kliniker i studien hade analyserat retikulocytantal i tillräckligt antal för att kunna delta i jämförelsen mellan klinikerna. För kontrollgruppen och de franska bulldoggarna hade individer provtagna på Bagarmossen högre retikulocytantal jämfört med de provtagna på UDS. Detta konstaterades även för de franska bulldoggarna på Roslagen. Likt hematokriten mäts retikulocytantal olika beroende på vilket instrument som används och specialfärgning används. Inga skillnader påvisades mellan åldersgrupperna.

5.3. Slutsats

Sammantaget har studien konstaterat att de franska bulldoggarna har högre hemoglobinkoncentration och hematokrit jämfört med en kontrollgrupp och att mopsarna har lägre värden för samma parametrar. Samtliga medelvärden var dock inom normala referensintervall. Studien har inte kunnat svara på varför så är fallet – normalvariation för raserna eller fysiologiska förändringar till följd av patologiska tillstånd. Påståendet att alla brakycéfala hundar har högre blodvärden till följd av kronisk dyspné kan därför inte styrkas.

Referenser

- Bannasch, D., Young, A., Myers, J., Truvé, K., Dickinson, P., Gregg, J., Davis, R., Bongcam-Rudloff, E., Webster, M.T., Lindblad-Toh, K. & Pedersen, N. (2010). Localization of canine brachycephaly using an across breed mapping approach. *PLoS ONE*, 5 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009632>
- Brenten, T., Morris, P.J., Salt, C., Raila, J., Kohn, B., Schweigert, F.J. & Zentek, J. (2016). Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young labrador retriever and miniature schnauzer dogs. *Veterinary Record Open*, 3 (1), e000166. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2015-000166>
- Carlson, J.T., Hedner, J., Fagerberg, B., Ejnell, H., Magnusson, B. & Fyhrquist, F. (1992). Secondary polycythaemia associated with nocturnal apnoea--a relationship not mediated by erythropoietin? *Journal of Internal Medicine*, 231 (4), 381–387. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.1992.tb00948.x>
- Choi, J.B., Loredó, J.S., Norman, D., Mills, P.J., Ancoli-Israel, S., Ziegler, M.G. & Dimsdale, J.E. (2006). Does obstructive sleep apnea increase hematocrit? *Sleep and Breathing*, 10 (3), 155–160. <https://doi.org/10.1007/s11325-006-0064-z>
- Cowie, M.R. (2017). Sleep apnea: State of the art. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 27 (4), 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.12.005>
- Crane, C., Rozanski, E.A., Abelson, A.L. & deLaforcade, A. (2017). Severe brachycephalic obstructive airway syndrome is associated with hypercoagulability in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29 (4), 570–573. <https://doi.org/10.1177/1040638717703434>
- von Dehn, B. (2014). Pediatric clinical pathology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44 (2), 205–219. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.10.003>
- Downing, F. & Gibson, S. (2018). Anaesthesia of brachycephalic dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 59 (12), 725–733. <https://doi.org/10.1111/jsap.12948>
- Drobatz, K.J., Hopper, K., Rozanski, E.A. & Silverstein, D.C. (2018). *Textbook of Small Animal Emergency Medicine*. Newark, United Sta: John Wiley & Sons, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooktess/detail.action?docID=5515190> [2020-10-19]
- Dupré, G. & Heidenreich, D. (2016). Brachycephalic syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46 (4), 691–707. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.02.002>
- Eckert, D.J. & Malhotra, A. (2008). Pathophysiology of adult obstructive sleep apnea. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 5 (2), 144–153. <https://doi.org/10.1513/pats.200707-114MG>

- Fasanella, F.J., Shivley, J.M., Wardlaw, J.L. & Givaruangsawat, S. (2010). Brachycephalic airway obstructive syndrome in dogs: 90 cases (1991–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237 (9), 1048–1051. <https://doi.org/10.2460/javma.237.9.1048>
- Haase, V.H. (2013). Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Reviews*, 27 (1), 41–53. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2012.12.003>
- Harada, T., Harada, T., Tsuboi, I., Tsuboi, I., Hirabayashi, Y., Hirabayashi, Y., Kosaku, K., Kosaku, K., Naito, M., Naito, M., Hara, H., Hara, H., Inoue, T., Inoue, T., Aizawa, S. & Aizawa, S. (2015). Decreased “ineffective erythropoiesis” preserves polycythemia in mice under long-term hypoxia. *Clinical and Experimental Medicine*, 15 (2), 179–188. <https://doi.org/10.1007/s10238-014-0286-5>
- Hendricks, J.C., Kline, L.R., Kovalski, R.J., O’Brien, J.A., Morrison, A.R. & Pack, A.I. (1987). The English bulldog: a natural model of sleep-disordered breathing. *Journal of Applied Physiology*, 63 (4), 1344–1350. <https://doi.org/10.1152/jappl.1987.63.4.1344>
- Hoareau, G.L., Jourdan, G., Mellema, M. & Verwaerde, P. (2012). Evaluation of arterial blood gases and arterial blood pressures in brachycephalic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26 (4), 897–904. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00941.x>
- Hong, S.-N., Yun, H.-C., Yoo, J.H. & Lee, S.H. (2017). Association between hypercoagulability and severe obstructive sleep apnea. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 143 (10), 996. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2017.1367>
- Koch, D.A., Arnold, S., Hubler, M. & Montavon, P.M. (2003). Brachycephalic syndrome in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian - North American Edition*, 55 (1), 48–55.
- Krieger, J., Sforza, E., Delanoe, C. & Petiau, C. (1992). Decrease in haematocrit with continuous positive airway pressure treatment in obstructive sleep apnoea patients. *The European Respiratory Journal*, 5 (2), 228–233.
- Liu, N., Adams, V.J., Kalmar, L., Ladlow, J.F. & Sargan, D.R. (2016). Whole-body barometric plethysmography characterizes upper airway obstruction in 3 brachycephalic breeds of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30 (3), 853–865. <https://doi.org/10.1111/jvim.13933>
- Liu, N.-C., Sargan, D.R., Adams, V.J. & Ladlow, J.F. (2015). Characterisation of brachycephalic obstructive airway syndrome in French bulldogs using whole-body barometric plethysmography. *PLoS ONE*, 10 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130741>
- Liu, N.-C., Troconis, E.L., Kalmar, L., Price, D.J., Wright, H.E., Adams, V.J., Sargan, D.R. & Ladlow, J.F. (2017). Conformational risk factors of brachycephalic obstructive airway syndrome (BOAS) in pugs, French bulldogs, and bulldogs. *PLoS ONE*, 12 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181928>
- Martinez, G. & Faber, P. (2011). Obstructive sleep apnoea. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain*, 11 (1), 5–8. <https://doi.org/10.1093/bja-ceaccp/mkq042>
- Meola, S.D. (2013). Brachycephalic airway syndrome. *Topics in Companion Animal Medicine*, 28 (3), 91–96. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2013.06.004>
- Messinezy, M., Aubry, S., O’Connell, G., Treacher, D.F. & Pearson, T.C. (1991). Oxygen desaturation in apparent and relative polycythaemia. *British Medical Journal*, 302

- (6770), 216–217. <https://doi.org/10.1136/bmj.302.6770.216>
- Moore-Gillon, J.C., Treacher, D.F., Gaminara, E.J., Pearson, T.C. & Cameron, I.R. (1986). Intermittent hypoxia in patients with unexplained polycythaemia. *BMJ*, 293 (6547), 588–590. <https://doi.org/10.1136/bmj.293.6547.588>
- Packer, R.M.A., Hendricks, A. & Burn, C.C. (2015a). Impact of facial conformation on canine health: corneal ulceration. *PLoS ONE*, 10 (5), e0123827–e0123827. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123827>
- Packer, R.M.A., Hendricks, A., Tivers, M.S. & Burn, C.C. (2015b). Impact of facial conformation on canine health: brachycephalic obstructive airway syndrome. *PLoS ONE*, 10 (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137496>
- Pattullo, K.M., Kidney, B.A., Taylor, S.M. & Jackson, M.L. (2015). Reticulocytosis in nonanemic dogs: increasing prevalence and potential etiologies. *Veterinary Clinical Pathology*, 44 (1), 26–36. <https://doi.org/10.1111/vcp.12215>
- Pichetto, M., Arrighi, S., Gobetti, M. & Romussi, S. (2015). The anatomy of the dog soft palate. III. Histological evaluation of the caudal soft palate in brachycephalic neonates. *The Anatomical Record*, 298 (3), 618–623. <https://doi.org/10.1002/ar.23054>
- Radakovich, L.B., Pannone, S.C., Truelove, M.P., Olver, C.S. & Santangelo, K.S. (2017). Hematology and biochemistry of aging-evidence of "anemia of the elderly" in old dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 46 (1), 34–45. <https://doi.org/10.1111/vcp.12459>
- Rebar, A.H., MacWilliams, P.S., Feldman, B., Metzger, F., Pollock, R. & Roche, J. (2001). *A Guide to Hematology in Dogs and Cats*. Teton NewMedia, Incorporated.
- Sacchetti, L.M. & Mangiardi, P. (2012). *Obstructive Sleep Apnea. Causes, Treatment and Health Implications*. New York: Nova Science Publishers.
- Schwab, R.J., Gupta, K.B., Geftter, W.B., Metzger, L.J., Hoffman, E.A. & Pack, A.I. (1995). Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing. Significance of the lateral pharyngeal walls. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 152 (5), 1673–1689. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.5.7582313>
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Smith, C. & Jarecki, A. (2011). *Atlas of Comparative Diagnostic and Experimental Hematology*, 2nd Edition. John Wiley & Sons.
- Strollo, P.J.Jr. & Rogers, R.M. (1996). Obstructive sleep apnea. *The New England Journal of Medicine*, 334, 99–104. <https://doi.org/10.1056/NEJM199601113340207>
- Stuart, B.J. & Viera, A.J. (2004). Polycythemia vera. *American Family Physician*, 69 (9), 2139–2144.
- Suchý, J., Pernica, J. & Korvas, P. (2015). Changes of selected hematological parameters and morning rest rate during ten days high altitude stay and training. *AUC Kineanthropologica*, 50 (1), 5–14. <https://doi.org/10.14712/23366052.2015.1>
- Tsiftoglou, A.S., Vizirianakis, I.S. & Strouboulis, J. (2009). Erythropoiesis: Model systems, molecular regulators, and developmental programs. *IUBMB Life*, 61 (8), 800–830. <https://doi.org/10.1002/iub.226>
- Udeshi, A., Cantie, S.M. & Pierre, E. (2010). Postobstructive pulmonary edema. *Journal of Critical Care*, 25 (3), 538.e1–538.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2009.12.014>

- Weiss, D.J., Wardrop, K.J. & Schalm, O.W. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Young, T., Palta, M., Dempsey, J., Skatrud, J., Weber, S. & Badr, S. (1993). The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *New England Journal of Medicine*, 328 (17), 1230–1235. <https://doi.org/10.1056/NEJM199304293281704>
- Young, T., Skatrud, J. & Peppard, P.E. (2004). Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 291 (16), 2013–2016. <https://doi.org/10.1001/jama.291.16.2013>

Populärvetenskaplig sammanfattning

De senaste åren har trubbnosiga hundraser blivit alltmer populära. Dessa hundraser lider också ofta av brakycefalt obstruktivt syndrom vilket påverkar deras andning och förmåga att syresätta sig. Kroppen reagerar på den låga syresättningen genom att producera fler röda blodkroppar – ett fenomen som studerats på människor som tränar på hög höjd eller som lider av andningsuppehåll under sömn. Syftet med denna studie var att undersöka om tidigare påståenden att trubbnosiga hundar har högre blodvärden (hematokrit, hemoglobin och retikulocyter) jämfört med hundar som inte är trubbnosiga stämmer.

Röda blodkroppar (erythrocyter) produceras i benmärgen och har till uppgift att transportera syre från lungorna ut i alla kroppens vävnader och att transportera koldioxid i motsatt väg. Syre binds till röda blodkroppar med hjälp av ett protein som heter hemoglobin. Flera faktorer påverkar hur många röda blodkroppar som cirkulerar i kroppen bland annat kön, ålder med flera. Röda blodkroppar saknar en cellkärna och därför kan inte nya blodkroppar produceras genom celledelning. Retikulocyter är det sista stadiet innan cellen blir en färdig röd blodkropp. Den andel av blodet som består av röda blodkroppar kallas för hematokrit. Processen där nya blodkroppar bildas från kärnförande stamceller kallas erytropoesen. Njuren känner av de låga syrenivåerna i blodet och utsöndrar ett hormon som startar en ökad produktion av röda blodkroppar. Det finns även andra organ som påverkar produktionen av röda blodkroppar bland annat sköldkörteln, äggstockarna och testiklarna. En förhöjd nivå av antalet cirkulerande röda blodkroppar, hemoglobinhalt och hematokrit kallas erythrocytosis. Det finns flera olika typer av erythrocytosis och den vanligaste uppstår på grund av uttorkning så att proportionen röda blodkroppar upplevs förhöjd på grund av att den del av blodet som inte består av celler (plasma) har minskat. Det finns även en annan form av erythrocytosis vilken uppstår hos människor som utsätts för nedsatta syrenivåer (exempelvis vid höghöjdsträning och sömn-*apné*). Denna form av erythrocytosis är den som tros drabba trubbnosiga hundar.

Mops, fransk bulldogg och engelsk bulldogg är exempel på trubbnosiga raser. Trubbnosiga hundar har en förkortad nos vilket ger ett ihoptryckt utseende. Andra avvikelser som trubbnosiga hundar ofta uppvisar inkluderar trånga näsborrar, en förlängning av mjuka gommen och en smal luftstrupe. Alla dessa avvikelser bidrar

till trubbnosiga hundars svårighet att syresätta sig och andas normalt. Liknande avvikelser ses hos människor diagnostiserade med sömnapné (andningsuppehåll under sömn) och den engelska bulldoggen har även använts som studiemodell för dessa patienter. Många riskfaktorer stämmer överens mellan människor med sömnapné och trubbnosiga hundar men inte alla. Studier på människor har visat att människor med sömnapné har tydligt förhöjda blodvärden jämfört med friska kontroller. Detta har även visats i ett fåtal studier på trubbnosiga hundar.

I denna studie jämfördes en grupp med mopsar och en grupp med franska bulldoggar var för sig med en kontrollgrupp av hundar som inte var trubbnosiga. Information togs från journaler från SLU Universitetsdjursjukhuset eller någon av Anicura-klinikerna: Albano, Bagarmossen eller Roslagen. Totalt inkluderades 118 stycken mopsar, 148 stycken franska bulldoggar och 164 stycken hundar i kontrollgruppen. Resultatet blev att de franska bulldoggarna konstaterades ha högre blodvärden (hemoglobinkoncentration och hematokrit) jämfört med kontrollgruppen. Detta har även setts hos människor som tränar på hög höjd och de diagnostiserade med sömnapné. Ett oväntat resultat var att mopsarna hade lägre blodvärden (hemoglobinkoncentration och hematokrit) jämfört med kontrollgruppen. Mopsarna hade däremot förhöjt antal retikulocyter jämfört med kontrollgruppen men ingen skillnad avseende retikulocyter kunde ses hos de franska bulldoggarna.

Flera möjliga förklaringar till dessa förändringar hos de trubbnosiga hundarna har diskuterats i studien, bland annat ålder, underliggande sjukdom och normalvariation för raserna. Vissa är mer sannolika än andra men sammantaget går det att konstatera att inte alla trubbnosiga hundar kommer ha förhöjda blodvärden som resultat av en nedsatt syresättning.